

抑毒方治疗肝肾阴虚兼湿热型慢性乙型肝炎的疗效及对 T 细胞亚群的影响

汤伯宗^{1,2} 李 曼¹ 高月求¹

摘要 **目的** 研究抑毒方治疗乙型肝炎核心相关抗原 (hepatitis B e-antigen, HBeAg) 阳性慢性乙型肝炎 (chronic hepatitis B, CHB) 患者的疗效及对 T 细胞亚群的数量及功能变化的影响。**方法** 57 例 HBeAg 阳性 CHB 患者, 根据治疗方案, 随机分为单用恩替卡韦组 (对照组) 和恩替卡韦联合抑毒方组 (治疗组)。治疗 6 个月后观察治疗前后 ALT、AST、HBV-DNA、HBV-M、肝功能复常率、HBV-DNA 转阴率、HBeAg 转阴率、中医证候积分变化; 应用流式细胞术检测 HBeAg 阳性 CHB 患者外周血中自然杀伤 (NK) T 细胞的数量和分泌 γ -干扰素 (IFN- γ)、白细胞介素-4 (IL-4) 的量, 以及 Th1、Th2、Tc1、Tc2 细胞的数量。**结果** 两组共有 7 例病例脱落。与对照组比较, 治疗组能够明显降低 ALT、AST、HBV-DNA 水平及中医证候积分 ($P < 0.05$); 并能明显提高肝功能复常率, 而对 HBV-DNA 和 HBeAg 转阴率的提高, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。对照组能够明显增加 NKT 细胞分泌 IFN- γ , 减少分泌 IL-4, 增加 Tc1 细胞的数量, 导致 Tc1/Tc2 比值升高, 而治疗组不但可以增加 NKT 细胞的数量, 使 IFN- γ 分泌增加, IL-4 分泌减少, 而且能够明显增加 Th1、Tc1 细胞数量, 降低 Th2、Tc2 细胞数量, 导致 Th1/Th2、Tc1/Tc2 的比值升高 ($P < 0.05$)。**结论** 抑毒方能够有效改善 HBeAg 阳性 CHB 患者的肝功能、抑制 HBV-DNA 复制、改善临床症状; 抑毒方的作用机制可能是通过增加 NKT 细胞的数量, 使 NKT 细胞分泌 IFN- γ 增加, 分泌 IL-4 降低, 调节 Th1/Th2 与 Tc1/Tc2 之间的平衡而发挥作用。

关键词 乙型肝炎核心相关抗原; 慢性乙型肝炎; 自然杀伤 T 细胞; 辅助 T 淋巴细胞; 细胞毒 T 细胞

Curative Effect of Yidu Recipe in Treating Chronic Hepatitis B Patients of Gan-Shen Yin-deficiency and Damp-Heat Syndrome Type and Its Influence of T-cell Subsets TANG Bo-zong, LI Man, and GAO Yue-qiu
Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Key Laboratory of Liver and Kidney Diseases of Ministry of Education, Shanghai (200021)

ABSTRACT **Objective** To study the effect of Yidu Recipe (YDR) in treating patients of chronic hepatitis B (CHB) with positive hepatitis B e-antigen (HBeAg) and its influence on the quantity and function of T-cell subsets. **Methods** Fifty-seven CHB patients measured up the inclusive criteria were randomly assigned to the control group and the treated group, treated respectively by entecavir alone and entecavir + YDR for 6 months. Changes of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), HBV-DNA, HBV-M, interleukin-4 (IL-4) and Chinese medicine syndrome score, as well as amounts of natural killer (NK) T cell, γ -interferon (γ -IFN), Th1, Th2, Tc1 and Tc2 cells in peripheral blood (detected by flow cytometry) before and after treatment were observed. And the liver function normalization rate, negative inversion rates of HBV-DNA and HBeAg were estimated at terminal of the trial. **Results** Seven cases were dropped out in the observation period. Compared with the control group, levels of ALT, AST, HBV-DNA and Chinese medicine syndrome score were lower after treatment ($P < 0.05$), and liver function normalization rate was higher in the treated group, while the difference between groups in negative inversion rates HBV-DNA and HBeAg were insignificant ($P > 0.05$). Amount of IFN- γ increased, IL-4 reduced, and Tc1 cell raised after treatment, which led to the rise of Tc1/Tc2 ratio in both groups; while in the treated group, in addition to the above-mentioned changes, the Th1 cell was in-

基金项目: 国家传染病防治重大科技专项 (No. 2008ZX10005-006); 上海市教育委员会 E 研究院建设计划项目 (No. 03008); 上海市科学委员会引导项目 (No. 074119608); 上海市浦东新区创新项目

作者单位: 1. 上海中医药大学附属曙光医院 肝肾疾病病证教育部重点实验室 (上海 200021); 2. 上海市公共卫生临床中心

通讯作者: 高月求, Tel: 13795388789, E-mail: gaoyueqiu@hotmail.com

creased also, and thus to make elevation of Th1/Th2 ratio ($P < 0.05$). **Conclusion** The efficacy of entecavir + YDR in treating HBeAg positive CHB patients is better than that of entecavir alone. YDR can effectively improve patients' liver function, inhibit HBV-DNA replication and improve clinical symptoms, its action may be realized by way of increasing the amount of NKT cells, inducing increase of IFN- γ and decrease of IL-4 secretions, and regulating the balance between Th1/Th2 and Tc1/Tc2.

KEYWORDS HBeAg; chronic hepatitis B; natural killer T-cell; T-helper cell; cytotoxic T-lymphocyte

抑毒方系上海中医药大学附属曙光医院治疗慢性乙型肝炎 (chronic hepatitis B, CHB) 的经验方, 临床使用具有一定的抑制乙型肝炎病毒复制和改善肝功能的疗效, 为探讨其确切疗效及作用机制, 笔者进行了抑毒方联合恩替卡韦治疗肝肾阴虚兼湿热型乙型肝炎核心相关抗原 (hepatitis B e-antigen, HBeAg) 阳性 CHB 患者的疗效观察并研究其对自然杀伤 (natural killer, NK) T 细胞数量和 γ -干扰素 (interferon-gamma, IFN- γ) 和白细胞介素-4 (interleukin-4, IL-4) 表达的影响。

资料与方法

1 病例选择标准

1.1 西医诊断标准 参照 2005 年中华医学会肝病学会、感染病学分会联合修订的“慢性乙型肝炎防治指南”^[1] 中 CHB 诊断标准: (1) 肝炎病史 0.5 年以上; (2) HBsAg 和 (或) HBV-DNA 阳性; (3) 肝组织穿刺证实为慢性肝炎者。

1.2 中医辨证标准 肝肾阴虚兼湿热证辨证标准参照《中药新药临床研究指导原则》^[2], 主证: (1) 两胁隐痛; (2) 腰膝酸软; (3) 舌红, 苔薄黄腻或苔少、无苔。次证: (1) 头晕耳鸣; (2) 两目干涩; (3) 经少经闭或遗精; (4) 大便秘结或稀溏, 脉弦细数。具备主证中任 2 项即属本证或具备主证中任 1 项及次证 4 项中任 2 项亦属本证。

1.3 纳入标准 (1) 符合上述中西医双重标准, (2) 年龄 18~65 岁的男性或女性; (3) HBeAg 和 HBV-DNA 阳性; (4) ALT ≥ 2 倍于正常值, TBIL ≤ 2 倍于正常值; (5) 6 个月内未经免疫调节剂及抗病毒治疗; (6) 育龄期妇女必须已采取有效的避孕措施; (7) 同意并签署知情同意书者。

1.4 剔除标准 (1) 年龄 < 18 周岁, > 65 周岁; (2) 合并其他嗜肝病毒感染的肝炎, 长期饮酒史或其他慢性重型肝炎和肝硬化; (3) 伴有其他严重原发病者; 或精神病患者; (4) 妊娠或准备妊娠妇女、哺乳期妇女; (5) 过敏体质或多种药过敏的患者; (6) 不能按规定的治疗方案配合治疗者。

2 临床资料 57 例肝肾阴虚兼湿热型 HBeAg 阳性 CHB 患者均是上海中医药大学附属曙光医院 2007 年 10 月—2009 年 3 月间的肝炎门诊及病房患者。根据所采用的治疗方案, 将患者随机分为单用恩替卡韦组 (对照组) 和恩替卡韦联合抑毒方组 (治疗组)。其中对照组原有 31 例入组, 研究过程中有 1 例因经济原因改用拉米夫定治疗, 2 例加用了非抑毒方中药治疗, 7 例失访脱落, 以上 10 例均予以剔除; 治疗组原有 33 例入组, 治疗过程中有 2 例改用其他抗病毒药物治疗, 2 例因失访脱落, 以上 4 例均予以剔除; 最后完成本研究的患者共 50 例。其中对照组 21 例, 男 17 例, 女 4 例; 年龄 20~57 岁, 平均 (44.10 ± 12.25) 岁; 病程 3~29 年, 平均 (21.00 ± 1.67) 年; 治疗组 29 例, 男 24 例, 女 5 例; 年龄 26~58 岁, 平均 (42.38 ± 8.26) 岁; 病程 2~36 年, 平均 (29.00 ± 11.28) 年。两组资料比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

3 方法

3.1 用药方法 对照组: 口服恩替卡韦 (每片 0.5 mg, 美国百时美施贵宝公司生产), 0.5 mg/次, 每日 1 次。治疗组: 在对照组治疗基础上, 加中药抑毒方 (组成: 女贞子 15 g 旱莲草 15 g 仙茅 15 g 淫羊藿 15 g 猫人参 30 g 猫爪草 15 g 紫草 15 g 牡丹皮 15 g), 加水煎至 400 mL, 分早、晚各 1 次口服, 两组疗程均为 6 个月。

3.2 观察项目与检测方法

3.2.1 常规观测指标 (1) 肝功能: 包括 ALT、AST; (2) 血清 HBV 病毒学标志的检测: 包括 HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb、HBcAb (ABOTT 法); (3) 血清 HBV-DNA 定量 (罗氏荧光定量 PCR 法); 以上均由曙光医院检验科统一检测。

3.2.2 免疫学检测指标 因为 PMA 有下调 CD4 表达的作用, 本研究用 CD3⁺CD8⁻T 细胞代表 CD4⁺T 细胞。NKT (CD3⁺TCRV α 24⁺) 细胞、Th1 (CD3⁺CD8⁻IFN- γ ⁺) 细胞、Th2 (CD3⁺CD8⁻IL-4⁺) 细胞、Tc1 (CD3⁺CD8⁺IFN- γ ⁺) 细胞、Tc2 (CD3⁺CD8⁺IL-4⁺) 细胞、NKT 细胞分泌的 IFN- γ (CD3⁺TCRV α 24⁺

IFN- γ ⁺）、NKT 细胞分泌的 IL-4（CD3⁺TCRV α 24⁺IL-4⁺），采用细胞内染色法检测。

3.2.3 外周血 T 细胞亚群检测方法 取肝素钠抗凝新鲜静脉血 3 mL，分离外周血单个核细胞（peripheral blood mononuclear cell, PBMC）。用含 10% 胎牛血清的 1640 培养液将细胞浓度调整至 $1 \times 10^7/\text{mL}$ 备用。取两个试管各加入 100 μL PBMC，分别加入 PMA（25 ng/mL）2.5 μL ，Ionomycin（1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）2 μL ，Monensin（1.7 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）2 μL ，充分混匀于细胞培养箱共培养 4 ~ 6 h 后一管加入 CD3-PE-cy 5.5 /CD8-PE-TR / TCRV α 24-PE 抗体混合物，另一管加入同型对照抗体混合物，避光孵育 15 ~ 30 min 后分别 FIX & PERM A 100 μL 室温避光孵育 15 ~ 30 min，PBS 洗涤。一管加 FIX & PERM B 和 IL-4-PE-cy7/IFN- γ -APC-Alexa Fluor 750 抗体混合物；另一管加入 FIX & PERM B 和同型对照抗体混合物孵育 15 ~ 30 min，PBS 洗涤，PBS 重悬细胞，用流式细胞仪检测各型淋巴细胞亚群数量。

3.3 统计学方法 细胞表型的比例用 BD FACS Aria 6.0 软件统计分析；其余结果均用 SPSS 13.0 统计软件整理分析数据。同组治疗前后比较采用配对 t 检验；两组治疗后的变化比较采用独立样本 t 检验。所有的统计检验均采用双侧检验， $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 临床疗效

1.1 两组治疗前后 ALT、AST、HBV-DNA 及中医证候积分比较（表 1） 与治疗前比较，两组均能够明显降低患者 ALT、AST、HBV-DNA 及中医证候积分水平，但治疗组较对照组作用更显著（ $P < 0.05$ ）。

表 1 两组治疗前后 ALT、AST、HBV-DNA 及中医证候积分比较（ $\bar{x} \pm s$ ）

组别	时间	ALT (U/L)	AST (U/L)	log (HBV-DNA)	中医证候积分 (分)
对照	治疗前	145.19 $\pm$ 58.63	120.14 $\pm$ 41.31	6.26 $\pm$ 0.91	11.81 $\pm$ 2.02
	(21) 治疗后	48.29 $\pm$ 16.59*	41.48 $\pm$ 13.31*	3.85 $\pm$ 1.75*	7.57 $\pm$ 1.12*
治疗	治疗前	141.52 $\pm$ 44.46	113.90 $\pm$ 42.46	6.51 $\pm$ 0.60	11.52 $\pm$ 1.72
	(29) 治疗后	39.55 $\pm$ 9.10* Δ	34.90 $\pm$ 8.83* Δ	2.70 $\pm$ 1.90* Δ	5.76 $\pm$ 1.88* Δ

注：与本组治疗前比较，* $P < 0.05$ ；与对照组治疗后比较， $\Delta P < 0.05$ ；()内数据为例数；下表同

表 3 两组治疗前后 Th1、Th2、Tc1、Tc2 细胞数量及 Th1/Th2、Tc1/Tc2 比值变化比较（%， $\bar{x} \pm s$ ）

组别	例数	时间	Th1	Th2	Tc1	Tc2	Th1/Th2	Tc1/Tc2
对照	21	治疗前	17.17 $\pm$ 2.24	2.60 $\pm$ 0.42	12.70 $\pm$ 1.59	2.71 $\pm$ 0.37	6.70 $\pm$ 0.99	4.80 $\pm$ 1.18
		治疗后	17.46 $\pm$ 1.71	2.46 $\pm$ 0.26	15.54 $\pm$ 1.49*	2.62 $\pm$ 0.20	7.17 $\pm$ 0.94	5.93 $\pm$ 0.48*
治疗	29	治疗前	17.00 $\pm$ 1.88	2.60 $\pm$ 0.30	12.82 $\pm$ 1.53	2.71 $\pm$ 0.26	6.59 $\pm$ 0.84	4.78 $\pm$ 0.75
		治疗后	18.59 $\pm$ 1.71* Δ	2.27 $\pm$ 0.23* Δ	17.14 $\pm$ 1.71* Δ	2.43 $\pm$ 0.18* Δ	8.24 $\pm$ 1.00* Δ	7.08 $\pm$ 0.74* Δ

1.2 两组治疗后肝功能复常率、HBV-DNA 转阴率及 HBeAg 转阴率比较 对照组 21 例患者中有 9 例在治疗 6 个月后肝功能恢复正常，复常率是 42.86%，而治疗组 29 例患者中有 24 例肝功能恢复正常，复常率是 82.76%，两组比较，差异有统计学意义（ $P < 0.05$ ）。对照组 HBV-DNA 有 3 例转阴，治疗组有 9 例转阴，转阴率分别是 14.29% 和 31.03%，两组比较，差异无统计学意义（ $P > 0.05$ ）。治疗后，对照组有 1 例出现 HBeAg 转阴，而治疗组有 4 例，HBeAg 转阴率分别是 4.80% 和 13.79%，两组比较，差异无统计学意义（ $P > 0.05$ ）。

2 两组治疗前后 NKT 细胞数量及 IFN- γ 、IL-4 表达比较（表 2） 与治疗前比较，治疗 6 个月后，对照组 NKT 细胞数量增加不明显，而治疗组能够明显增加 NKT 细胞数量，差异有统计学意义（ $P < 0.05$ ）；治疗组与对照组均能够促进 NKT 细胞分泌 IFN- γ ，抑制分泌 IL-4，但治疗组作用更明显（ $P < 0.05$ ）。

表 2 两组治疗前后 NKT 细胞数量及 IFN- γ 、IL-4 表达比较（%， $\bar{x} \pm s$ ）

组别	例数	时间	NKT 细胞	IFN- γ	IL-4
对照	21	治疗前	1.66 $\pm$ 0.30	75.22 $\pm$ 2.95	65.56 $\pm$ 3.28
		治疗后	1.72 $\pm$ 0.20	80.50 $\pm$ 3.76*	62.38 $\pm$ 2.99*
治疗	29	治疗前	1.62 $\pm$ 0.28	75.07 $\pm$ 5.51	65.87 $\pm$ 2.95
		治疗后	1.85 $\pm$ 0.21* Δ	84.88 $\pm$ 4.79* Δ	54.42 $\pm$ 5.74* Δ

3 两组治疗前后 Th1、Th2、Tc1、Tc2 细胞数量及 Th1/Th2、Tc1/Tc2 比值变化比较（表 3） 与治疗前比较，治疗 6 个月后，对照组能够明显增加 Tc1 细胞的数量，提升 Tc1/Tc2 的比值，差异有统计学意义（ $P < 0.05$ ），而对 Th1、Th2 细胞数量和 Th1/Th2 比值没有显著影响，差异无统计学意义（ $P > 0.05$ ）。治疗后，治疗组不但明显增加 Th1、Tc1 数量、减少 Th2、Tc2 细胞数量、提升 Th1/Th2、Tc1/Tc2 比值，且作用明显优于对照组（ $P < 0.05$ ）。

讨 论

CHB 属中医学“黄疸”、“胁痛”、“腹胀”、“积聚”范畴。感受湿热或湿热疫毒为 CHB 的首要病因，而正气不足为内在条件，饮食不节、情志不和为是诱发因素^[3]。

抑毒方由女贞子、旱莲草、仙茅、仙灵脾、猫人参、猫爪草、丹皮、紫草组成,现代药理研究表明:女贞子中的齐墩果酸能降低 ALT 水平,减轻肝组织炎性反应,并促进肝细胞再生,使坏死区迅速修复。而女贞子多糖对小鼠的免疫作用与机体的免疫状态有关,对非特异性细胞免疫有增强作用,对免疫抑制状态小鼠的细胞免疫有增强作用^[4]。对小鼠 T 细胞介导的免疫应答研究表明,旱莲草乙酸乙酯总提物对 T 淋巴细胞介导的细胞免疫具有一定的免疫调节作用^[5]。淫羊藿有效成分主要为淫羊藿苷和淫羊藿多糖。淫羊藿苷能够增加小鼠胸腺、脾脏重量,且能增强小鼠巨噬细胞吞噬能力、小鼠红细胞 C3b、细胞免疫复合物花环形成百分率和血清 TNF- α 水平也明显增加,增加小鼠免疫功能^[6]。淫羊藿多糖能使小鼠胸腺和脾脏细胞合成 IL-2 增多,并能诱生干扰素,提高扁桃体单个核细胞 NK、LAK 细胞杀伤活性,还可显著促进刀豆球蛋白诱导小鼠脾淋巴细胞产生集落刺激因子^[7,8]。仙茅中的仙茅苷能增强巨噬细胞的吞噬活性^[9],此外仙茅还具有良好的清除氧自由基的作用^[10]。猫人参具有清热解毒、祛风除湿的功效;猫爪草具有消肿散结、清热解毒的功效,主要用于淋巴结核和肿瘤的治疗,临床应用还发现此两者具有较好的抗病毒作用。丹皮中含有丹皮总苷(TGM)能够明显减轻卡介苗(BCG)和大肠杆菌脂多糖(LPS)诱导的小鼠免疫性肝损伤,能够降低 ALT 和 AST 水平,并减轻组织及肝脏中脂质过氧化物(LPO)的含量,起到保肝作用^[11]。TGM 还可明显促进刀豆蛋白 A(ConA)诱导小鼠 T 淋巴细胞增殖反应和大鼠 T 淋巴细胞产生 IL-2,以及促进脂多糖诱导 B 淋巴细胞增殖反应及大鼠腹腔巨噬细胞产生 IL-1,它们的浓度-效应曲线呈钟罩形,因此 TGM 还具有浓度依赖性双向免疫调节作用^[12]。此外其还能增强 NK 细胞的杀伤活性和单核巨噬细胞的吞噬功能,并能增强巨噬细胞分泌 IL-1、IL-2、TNF 等细胞因子的能力^[13]。紫草多糖能激活腹腔巨噬细胞的吞噬功能,提高单核巨噬细胞吞噬能力,增强脾脏中 T 细胞的数量和 T 淋巴细胞的功能,促进 T 淋巴细胞的免疫应答作用。此外,紫草还能抗 HBV,应静芝^[14]用紫草等中药治疗乙型肝炎 1 例(10 岁),连续服用 3 个多月,ALT 降至正常,随访近 20 年未复发。本试验结果表明,与对照组比较,治疗组能够明显降低 ALT、AST、HBV-DNA 水平,并能够明显改善 HBeAg 阳性 CHB 患者的临床症状。由于样本例数较少和治疗时间较短,两组 HBV-DNA 转阴率和 HBeAg 转阴率差异无统计学意义。

CHB 患者体内存在细胞免疫功能障碍,外周血 CD3⁺、CD8⁺百分率升高,CD3⁺ CD4⁺/CD3⁺ CD8⁺ 比值降低^[14,15]。在 HBV 特异性抗原的刺激下,CD4⁺ T 细胞在不同细胞因子作用下分化为 Th1 和 Th2 两种类型,并因此而影响细胞因子网络之间的平衡^[16,17]。对照组治疗 6 个月后能够明显增加 Tc1 细胞的数量,从而提高 Tc1/Tc2 比值,增强 CD8⁺ T 细胞的 CTL 作用,对 NKT、Th1、Th2、Tc2 细胞数量变化没有明显改善,但能够明显改善 NKT 细胞分泌的 IFN- γ 和 IL-4 的能力,增加 IFN- γ 的分泌并降低 IL-4 的分泌,这可能与恩替卡韦抑制 HBVDNA 聚合酶活性的抗病毒作用有关。

研究表明,当病毒特异性 CD8⁺ T 细胞占明显优势时,能够有效控制 HBV 感染,而不产生明显的肝损伤,实验也证实去除特异性 CD8⁺ T 细胞的黑猩猩能够导致急性 HBV 感染的慢性化和持续化^[18]。在慢性 HBV 感染时,肝脏内 CD8⁺ T 细胞主要是病毒非特异性的,肝脏内病毒特异性 CD8⁺ T 细胞启动了肝内损伤,而肝内浸润性的病毒非特异性 CD8⁺ T 淋巴细胞放大了这一过程^[19]。在单用恩替卡韦治疗时,虽然可以通过促进 NKT 细胞分泌 IFN- γ ,诱导增加 Tc1 细胞数量,发挥清除病毒作用,同时也破坏了肝细胞,导致肝功能异常。而恩替卡韦联合抑毒方能够明显更有效降低 HBV-DNA、ALT、AST 水平,抑毒方可能通过全面调节 NKT 细胞的数量及功能,促进 NKT 细胞分泌 IFN- γ ,抑制分泌 IL-4,导致 Th1、Tc1 细胞的数量增加,而 Th2、Tc2 细胞数量减少,调节 Th1/Th2 和 Tc1/Tc2 的动态平衡发挥保肝抗病毒作用。

参 考 文 献

- [1] 中华医学会肝病分会及中华医学会感染病学分会联合制订. 慢性乙型肝炎防治指南[S]. 中华传染病杂志, 2005, 23(6): 421-431.
Chinese Society of Hepatology and Chinese Society of Infectious Disease, Chinese Medical Association. The guideline of prevention and treatment for chronic hepatitis B [S]. Chin J Infect Dis, 2005, 23(6): 421-431.
- [2] 郑筱萸主编. 中药新药临床研究指导原则[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 147-148.
Zheng XY, editor. The Guide principle of clinical research on new drugs of traditional Chinese medicine[S]. Beijing: Chinese Medical Science and Technology Press, 2002: 147-148.
- [3] 侯留法. 慢性乙型肝炎的病机演变及治疗思路[J]. 中医研究, 2008, 21(12): 48-50.
Hou LF. Evolution of pathogenesis and thoughts of therapy of chronic hepatitis B[J]. Tradit Chin Med Res, 2008, 21(12): 48-50.

- [4] 李璘, 丁安伟, 孟丽. 女贞子多糖的免疫调节作用研究[J]. 中药药理与临床, 2001, 17(2):11-12.
Li L, Ding AW, Meng L. The study of ligustrum lucidum polysaccharides on immunoregulation effect in mice[J]. Pharmacol Clin Chin Materia Med, 2001, 17(2):11-12.
- [5] 刘雪英, 赵越平, 蒋永培, 等. 墨旱莲乙酸乙酯总提取物对 T 淋巴细胞功能的调节[J]. 第四军医大学学报, 2001, 22(8):754-756.
Liu XY, Zhao YP, Jiang YP, et al. Effect of ethylacetate extract of Eclipta prostrata on the function of T lymphocyte[J]. J Fourth Military Med Univ, 2001, 22(8):754-756.
- [6] 葛林阜, 董政军, 姜国胜, 等. 淫羊藿苷对小鼠免疫调节作用的研究[J]. 中华实用医学, 2001, 3(3):25-27.
Ge LF, Dong ZJ, Jiang GS, et al. The study of immunoregulation of icariin in mice[J]. J Chin Pract Med, 2001, 3(3):25-27.
- [7] 徐颖, 牟孝硕, 王刚, 等. 免疫功能低下小鼠免疫功能的影响[J]. 沈阳药科大学学报, 2000, 17(6):434-436.
Xu Y, Mu XS, Wang G, et al. The effects of epimedium polysaccharides on the immune function of immune-depressed mice[J]. J Shenyang Pharm Univ, 2000, 17(6):434-436.
- [8] 李书桐, 李铁军, 郑钦岳, 等. 淫羊藿苷对小鼠体外脾淋巴细胞增殖及产生集落刺激因子样活性的影响[J]. 第二军医大学学报, 1995, 16(4):340-342.
Li ST, Li TJ, Zheng QY, et al. Effect of icariin on the proliferation of mouse spleen lymphocytes *in vitro* and generation of colony-stimulating factor activity[J]. Acad J Sec Milit Med Univ, 1995, 16(4):340-342.
- [9] Kubo M, Namba K, Nagamoto N, et al. A new phenolic glucoside, curculigoside from rhizomes of Curculigo orchoides[J]. Planta Medica, 1983, 47(1):252-255.
- [10] 吴琼, 程小卫, 雷光青, 等. 仙茅苷对自由基的清除作用[J]. 中国现代应用药学杂志, 2007, 24(1):6-9.
Wu Q, Cheng XW, Lei GQ, et al. Effect of Curculigoside on free radical scavenging[J]. Chin J Mod Appl Pharm, 2007, 24(1):6-9.
- [11] 张安平, 沈玉先, 魏伟, 等. 丹皮总苷对小鼠免疫性肝损伤的保护作用[J]. 中国药理学通报, 1997, 13(5):435-437.
Zhang AP, Shen YX, Wei W, et al. Protective effect of total glucosides of mudan cortex on immunological liver injury in mice[J]. Chin Pharmacol Bull, 1997, 13(5):435-437.
- [12] 应静芝. 紫草在儿科临床应用举隅[J]. 浙江临床医学, 2002, 4(10):729.
Ying JZ. Clinical application in paediatrics exemplified in Zicao[J]. Zhejiang Clin Med J, 2002, 4(10):729.
- [13] 孙志义, 张东华, 王文华, 等. 紫草的成分、药理及临床应用概况[J]. 山东医药工业, 1998, 17(3):30.
Sun ZY, Zhang DH, Wang WH, et al. A survey of components, pharmacology and clinical application of Zicao[J]. J Shangdong Med Industry, 1998, 17(3):30.
- [14] 吴晓枫, 秦浩歌, 辛晓丽, 等. 慢性乙型肝炎患者外周血 T 淋巴细胞亚群变化[J]. 中国热带医学, 2008, 8(4):525-526.
Wu XF, Qin HG, Xin XL, et al. Variations of peripheral blood CD₃⁺ CD₄⁺, CD₃⁺ CD₈⁺ and CD₃⁺ T lymphocyte in chronic hepatitis B patients[J]. China Trop Med, 2008, 8(4):525-526.
- [15] 何英, 张允奇, 吴润香, 等. 慢性乙型肝炎患者外周血 T 淋巴细胞亚群变化与病毒复制的关系[J]. 检验医学, 2009, 24(11):808-811.
He Y, Zhang YQ, Wu RX, et al. Relationship between HBV DNA replication and T lymphocyte subsets in peripheral blood of patients with chronic hepatitis B[J]. Lab Med, 2009, 24(11):808-811.
- [16] Betoletti A, Gehring AJ. The immune response during hepatitis B virus infection[J]. J Gen Virol, 2006, 87(6):1439-1449.
- [17] Mizukoshi E, Sidney J, Livingston B, et al. Cellular immune responses to the hepatitis B virus polymerase[J]. J Immunol, 2004, 173(11):5863-5871.
- [18] Thimme R, Wieland S, Steiger C, et al. CD8(+) T cells mediate viral clearance and disease pathogenesis during acute hepatitis B virus infection[J]. J Virol, 2003, 77(1):68-76.
- [19] Teixeira CA, Martins FO, Andrade ZA, et al. The study of T-cell activation in peripheral blood and spleen of hepato-splenic patients suggests an exchange of cells between these two compartments in advanced human schistosomiasis mansonii infection[J]. Immunol, 2002, 56(3):315-322.

(收稿:2009-09-02 修回:2010-03-15)